

Einfluß eines Antihistaminicums auf die
hyaluronidase-spreading-hemmende
Wirkung des
Adrenalins und Noradrenalins

von

Elisabeth Király, geb. Zwickl

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Einfluß eines Antihistaminicums auf die hyaluronidase-spreading-
hemmende Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elisabeth Király, geb. Zwickl
aus
München
1961

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 14.3.1961



Meinem Gatten Dr. F. Király und
meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	6
Methodik	6
Versuchsreihen	7
Statistische Auswertung	12
Diskussion	21
Zusammenfassung	23
Literaturverzeichnis	24

Problematik

In früheren Arbeiten hat M a t h i e s ^{1,2} die Wirkungsweise in vivo hyaluronidasehemmender Substanzen untersucht. Methodisch wurde das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading angewandt, bei dem die Hemmungen der Ausbreitung eines Farbstoffes, dem Hyaluronidase zugesetzt wurde, gemessen. Vergleichsweise wurde die Ausbreitung eines Farbstoffes ohne Hyaluronidasebeigabe bestimmt. Das Spreading wurde an der Bauchhaut männlicher, weißer Ratten untersucht.

Im Einzelnen haben die Versuche gezeigt, daß Salicylate, Phenylbutazon, Chloräthylbenzmethoxazon, Glucocorticoide und im Moor wirksame Substanzen eine Hemmung des Hyaluronidasespreadings hervorrufen, die bei adrenalectomierten Tieren ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Tieren erhalten ist. Aus diesem Verhalten wurde der Schluß gezogen, daß die Anwesenheit der Nebenniere für das Zustandekommen des Hyaluronidase-Spreadings erforderlich ist. Zur Klärung der Frage, ob hierbei die Nebennierenrinde oder das Nebennierenmark eine maßgebende Rolle spielt, wurden Bestimmungen des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere bei intakten und hypophys-ektomierten Tieren durchgeführt ^{3,4}. Nach S a y e r s und S a y e r s ^{5,6} ist eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere als Ausdruck einer Nebennierenrindenaktivierung zu werten. Es zeigte sich, daß die geprüften spreadinghemmenden Substanzen, naturgemäß mit Ausnahme der Glucocorticoide, bei intakten Ratten die Nebennierenrinde stimulieren, eine Wirkung, die jedoch bei hypophysektomierten Tieren nicht festgestellt werden konnte. Dagegen war die volle spreadinghemmende Wirkung dieser Substanzen auch bei hypophysektomierten Tieren festzustellen ^{1,2}. Diese Versuchsergebnisse besagen, daß die geprüften Substanzen mit Ausnahme der Glucocorticoide zwar die Nebennierenrinde stimulieren, daß dieser Effekt jedoch nicht für das Zustandekommen der Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings verantwortlich gemacht werden kann. Es war deshalb anzunehmen, daß eine Nebennierenmark-Tätigkeit eine bedeutsame Rolle im Wirkungsablauf

hyaluronidase-spreadinghemmender Stoffe spielt. Diese Ansicht wurde durch die Tatsache gestützt, daß die Nebennierenmarkkatecholamine Adrenalin und Noradrenalin bei experimenteller Zufuhr nicht nur bei intakten sondern auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hemmung des Hyaluronidasespreadings erkennen lassen ^{7,8}. Weiterhin heben Adrenolytica (Ergotamin und Regitin) die spreadinghemmende Wirkung sowohl des Adrenalins und Noradrenalins, als auch der Salicylate, Glucocorticoide, des Phenylbutazons und der Moorbäder auf ^{7,9}. Ganglienblocker dagegen blockieren nur den spreadinghemmenden Effekt der Salicylate, Glucocorticoide, des Phenylbutazons usw., dagegen nicht den des Adrenalins und Noradrenalins ¹⁰. Da ganglienblockierende Substanzen auch das Nebennierenmark als differenziertes Ganglion blockieren ¹¹, ist verständlich, daß nur der hyaluronidasehemmende Effekt der genannten Agentien, nicht aber der der Nebennierenmarkhormone hemmend beeinflusst wird. Damit ist auch ein peripher blockierender Angriffspunkt der Ganglienblocker hinsichtlich des Wirkungsablaufes hyaluronidasehemmender Substanzen auszuschließen. Die genannten Untersuchungen haben ferner gezeigt, daß die hyaluronidase-spreading-hemmende Wirkung des Adrenalins und Noradrenalins keine primäre Katecholaminwirkung darstellt, das heißt, daß der hemmende Effekt auf das Hyaluronidase-Spreading erst zu einem Zeitpunkt sichtbar wird, zu dem die an der Beeinflussung der Pupillenweite meßbare Katecholaminwirkung bereits abgeklungen ist ⁸. Diese Tatsache ließ vermuten, daß durch die Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark weitere Abläufe im Organismus in Gang gesetzt werden, an denen vermutlich körpereigene Substanzen beteiligt sind. So wurde von M a t h i e s ¹² das Heparin einer näheren Betrachtung unterzogen. Heparin führt bereits in sehr geringen, noch nicht gerinnungsaktiven Dosen zu einer Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings, die durch Protaminsulfat aufgehoben wird. Auch die spreadinghemmende Wirkung der oben genannten Substanzen und der Nebennierenmarkkatecholamine wird durch das Heparin inaktivierende Protaminsulfat aufgehoben ¹². Damit ist die Möglichkeit einer Beteiligung des Heparins am Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen gegeben. Auch das Histamin führt nach Untersuchungen von M a t h i e s ¹² zu einer Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings. Dieser Effekt ist durch das Antihistaminicum Avil aufzuheben ¹². Untersuchungen von

A h l h e i m ¹³ haben ergeben, daß Avil ebenfalls den hyaluronidase-spreadinghemmenden Effekt des Phenylbutazons, des Prednisolons, des Natriumsalicylates, des Oestronsulfates und der im Moor wirk-samen Substanzen aufhebt. Auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse kann eine Mitwirkung des Histamins, das sich wie Heparin in den Mastzellen befindet ^{14,15}, ebenfalls diskutiert werden. Zur wei-teren Klärung der Stellung des Histamins im Wirkungsablauf der hyaluronidase-spreading-hemmenden Stoffe waren Untersuchungen der Beeinflussung des spreadinghemmenden Effektes der Nebennieren-markkatecholamine durch Antihistaminica erforderlich. Es war Auf-gabe der vorgelegten Arbeit, am Beispiel des Avils zu klären, inwieweit dieses den spreadinghemmenden Effekt des Adrenalins und Noradrenalins beeinflusst. Bezüglich der notwendigen Dosen und der Wirkungsdauer des Avils konnte bereits auf die erwähnten Unter-suchungen von A h l h e i m ¹³ zurückgegriffen werden. Nach dieser Arbeit blockieren 5 mg Avil/100 g Tiergewicht bei einer Applikation 30 Minuten vor Injektion der geprüften hyaluroni-dasehemmenden Stoffe deren hyaluronidasehemmenden Effekt.

Eigene Versuche

Methodik

Zu den Versuchen wurden weiße, männliche Ratten im Gewicht von 150 bis 200 g verwendet. Die Versuchstiere wurden mit Evipan-Natrium (30 mg/100 g Ratte) narkotisiert.

Die Bauchhaut der Versuchstiere wird als ein*Versuchsfeld mit 6 ver-schiedenen Lokalisationen aufgefaßt. Um etwaige Einflüsse der jeweiligen Lokalisationen auf die Ergebnisse der Versuche auszu-schalten, wurden die Versuche der Versuchsreihe 2-4 als "latei-nische Quadrate" geplant. Zu jeder einzelnen Versuchsreihe werden dabei entsprechend den 6 Lokalisationen 6 Versuchstiere benötigt; innerhalb dieser 6 Versuchstiere wird jedes der 6 Verfahren an jeder der 6 Lokalisationen einmal appliziert.

Zur Bestimmung der Hyaluronidaseaktivität diente ein Spreading-Test. Vor und zu bestimmten Zeiten nach i.v. Injektion des zu untersuchenden Stoffes wurde je eine Quaddel mit 0,1 ccm einer 0,06%igen Evansbluelösung (Farbstoffquaddel = F) und eine mit

0,1 ccm der gleichen Farbstofflösung, die 75 IE Hyaluronidase/ccm enthielt (Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel = FH) gesetzt. In 2 ccm der schon erwähnten 0,06%igen Evansblueslösung wurde hierzu eine Trockenampulle einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase (150 IE Kinetin) gelöst. Die Bauchhaut der Ratten wurde mit Pilca enthaart, ohne Defekte zu setzen. Die Quaddeln wurden intrakutan gesetzt, 10 Minuten nach Verabreichung des Stoffes wurden diese zur Feststellung der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Spreadings gemessen. Die Konturen wurden auf einen Filmstreifen aufgetragen und planimetrisch bestimmt, die angegebenen Werte sind in mm^2 zu verstehen.

1. Versuchsreihe

Nach Abmessung der ersten Quaddeln wurde den Versuchsratten 1γ Adrenalin/100 g Tier i.v. verabreicht. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15 und 45 Minuten nach der Injektion von Adrenalin gemessen. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 angegeben.

2. Versuchsreihe

Den Versuchstieren wurde nach Applikation und Messung der ersten Quaddelinjektion 1γ Noradrenalin/100 g Tier injiziert. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15 und 45 Minuten nach Verabreichung des Noradrenalins im Sinne der obigen Methode bestimmt. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 zu finden.

3. Versuchsreihe

In diesen Versuchen wurden den Tieren nach Abmessung der ersten Quaddeln 5 mg Avil/100 g Tier i.v. 30 Minuten nach 1γ Adrenalin/100 g Tier i.v. verabreicht. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15 und 45 Minuten nach der Adrenalininjektion gemessen. Die Ergebnisse dieser Versuche finden sich in Tabelle 4.

4. Versuchsreihe

Erste Quaddelinjektionen wurden vor Verabreichung des zu untersuchenden Medikamentes gesetzt. 5 mg Avil/100 g Tier wurde i.v. appliziert, 30 Minuten danach 1γ Noradrenalin/100 g Tier ebenfalls i.v. Die Versuchsergebnisse wurden in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²	vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²
1	175	140	134	138	254	176	240
2	140	124	110	116	238	191	230
3	150	120	114	122	263	231	248
4	150	127	131	127	268	212	257

T a b e l l e 1

(Versuchsreihe 1. 1♂ Adrenalin/100 g Tier i.v.)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²	vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²
1	160	139	128	129	246	223	229
2	180	136	129	112	249	219	237
3	170	137	129	115	243	218	220
4	155	138	128	117	237	214	229
5	180	130	122	118	242	223	230
6	165	135	125	119	243	225	229

T a b e l l e 2

(Versuchsreihe 2. 1♂ Noradrenalin/100 g Tier i.v.)

Tier Nr.	L o k a l i s a t i o n						Q u a d d e l					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	Fv	F ⁴⁵	H ¹⁵	F ¹⁵	Hv	H ⁴⁵						
2	F ⁴⁵	Hv	Fv	H ⁴⁵	F ¹⁵	H ¹⁵						
3	Hv	F ¹⁵	F ⁴⁵	H ¹⁵	H ⁴⁵	Fv						
4	F ¹⁵	H ⁴⁵	Hv	Fv	H ¹⁵	F ⁴⁵						
5	H ⁴⁵	H ¹⁵	F ¹⁵	F ⁴⁵	Fv	Hv						
6	H ¹⁵	Fv	H ⁴⁵	Hv	F ⁴⁵	F ¹⁵						

T a b e l l e 3
Lateinisches Quadrat zu Versuchsreihe 2

Tier Nr.	Tier gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²	vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²
1	165	128	118	115	248	208	146
2	170	136	129	120	243	196	159
3	165	138	124	119	240	202	146
4	195	133	122	117	242	209	159
5	155	134	129	118	249	194	153
6	155	132	128	116	242	210	155

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 3. 5 mg Avil/100 g Tier i.v.,
30 Minuten danach 1γ Adrenalin/100 g Tier i.v.)

Tier Nr.	L o k a l i s a t i o n			Q u a d d e l		
	1	2	3	4	5	6
1	Fv	Hv	F ¹⁵	H ¹⁵	H ⁴⁵	F ⁴⁵
2	H ¹⁵	F ¹⁵	H ⁴⁵	F ⁴⁵	Fv	Hv
3	F ⁴⁵	H ⁴⁵	Fv	Hv	H ¹⁵	F ¹⁵
4	Hv	Fv	H ¹⁵	F ¹⁵	F ⁴⁵	H ⁴⁵
5	F ¹⁵	H ¹⁵	F ⁴⁵	H ⁴⁵	Hv	Fv
6	H ⁴⁵	F ⁴⁵	Hv	Fv	F ¹⁵	H ¹⁵

T a b e l l e 5
Lateinisches Quadrat zu Versuchsreihe 3

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²	vor mm ²	15'nach mm ²	45'nach mm ²
1	175	120	110	123	234	209	200
2	155	125	111	104	240	198	178
3	160	121	112	110	232	204	181
4	195	124	105	114	230	210	198
5	200	127	119	107	243	205	168
6	200	125	113	105	241	208	174

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 4. 5 mg Avil/100 g Tier i.v.,
30 Minuten danach 1γ Noradrenalin/100 g i.v.)

Tier Nr.	L o k a l i s a t i o n d e r Q u a d d e l					
	1	2	3	4	5	6
1	Hv	H ⁴⁵	F ¹⁵	H ¹⁵	Fv	F ⁴⁵
2	Fv	F ⁴⁵	Hv	F ¹⁵	H ⁴⁵	H ¹⁵
3	H ⁴⁵	H ¹⁵	Fv	Hv	F ⁴⁵	F ¹⁵
4	F ⁴⁵	F ¹⁵	H ⁴⁵	Fv	H ¹⁵	Hv
5	H ¹⁵	Hv	F ⁴⁵	H ⁴⁵	F ¹⁵	Fv
6	F ¹⁵	Fv	H ¹⁵	F ⁴⁵	Hv	H ⁴⁵

T a b e l l e 7
Lateinisches Quadrat zu Versuchsreihe 4

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse ist die Bestimmung der experimentellen Variabilität. Hierzu ist es notwendig, die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse in Komponenten zu zerlegen, die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen, welche das Versuchsergebnis beeinflussen. Derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität, der sich nicht als Folge solcher systematischer Faktoren erklären läßt, ist dann als Schätzung der experimentellen Variabilität aufzufassen.

Als systematische Faktoren waren bei der hier vorliegenden Versuchsanordnung zu berücksichtigen: 1) Individuelles Reaktionsniveau der Versuchstiere, 2) Wirkung der 6 Verfahren, 3) systematischer Einfluß der Lokalisation (geprüft in Versuchsreihe 2-4).

Zur Bestimmung der Variabilitäten, die zu diesen systematischen Faktoren gehören, bedienten wir uns einer mehrfachen Varianz-Analyse. Diesen Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, daß sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Form unabhängig überlagert. Der Einfluß, den die einzelnen systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität haben, ergibt sich in diesen Varianz-Analysen in Form von "Varianz-Komponenten", die zu den einzelnen systematischen Faktoren gehören. Die Schätzung der experimentellen Variabilität ergibt sich in den Varianz-Analysen in Form der Rest-Varianz.

Ein systematischer Faktor hat nur dann einen statistisch gesicherten Einfluß auf die Versuchsergebnisse, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch größer ist als die experimentelle Variabilität (Rest-Varianz). Ob dieses der Fall ist, wird in den Varianz-Analysen durch einen Vergleich dieser Varianz-Komponenten mit Hilfe des F-Tests geprüft.

Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrundelag, interessierte hier primär nur der Einfluß, den die 6 Verfahren auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln ausüben. Hierbei war zunächst zwischen den beiden Quaddel-Typen zu unterscheiden;

außerdem war für jeden Quaddel-Typus einzeln zu prüfen, ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Versuchszeiten einerseits und zwischen den Versuchszeiten selbst andererseits bestehen. Diesen Fragestellungen entspricht in den Varianz-Analysen je eine "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Verfahren" gehört. Ein statistisch gesicherter Einfluß der Prüfsubstanz auf die Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddel-Typus liegt nur dann vor, wenn mindestens eine der zwei orthogonalen Komponenten, die zu diesem Quaddel-Typus gehören, statistisch gesichert größer ist als die Rest-Varianz. Die Prüfung der Frage, ob dieses der Fall ist, wurde auch hier mit Hilfe des F-Tests durchgeführt.

Das lineare statistische Modell und somit die Varianz-Analyse läßt keinen Schluß auf die absolute Wirksamkeit eines "Verfahren" zu; es ist vielmehr nur möglich, den Unterschied in der Wirksamkeit je zweier "Verfahren" statistisch zu prüfen. Die Größe dieses Unterschiedes wird dabei auf folgende Weise geschätzt: Es sei hierzu $\bar{x}(V)$ das arithmetische Mittel aller Meßwerte, die für das Verfahren V beobachtet wurden. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu 2 verschiedenen Verfahren gehören, ist dann eine optimale Schätzung für den Unterschied in der Wirkung der Verfahren; gemessen wird hierbei die Differenz in der Diffusionsgeschwindigkeit, die zu diesen beiden Verfahren gehören. Bei der Fragestellung, die den Versuchen zugrundelag, interessierte hier primär der Unterschied

$$\sigma \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$$

zwischen den Versuchszeiten t und der Kontrolle K. Im Prinzip wird in der Varianz-Analyse nichts anderes geprüft als die Frage, ob diese Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden sind.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 8-15 dargestellt. In den Tabellen 8-11 ist für jede Versuchsreihe das Ergebnis der zugehörigen Varianz-Analyse angegeben; in den Tabellen 12-15 finden sich für jedes Verfahren die Mittelwerte $\bar{x}(V)$ und außerdem die Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$.

Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergab, daß eine Mittelwertsdifferenz $\sigma \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden ist, wurde in der Spalte "Sicherung" angegeben, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit diese Aussage belastet ist. In der mit "Hemmung" überschriebenen Spalte ist schließlich die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hyaluronidasehemmung angegeben.

In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: den Varianz-Quotienten zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);
- p: Die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Ein statistisch gesicherter Einfluß eines systematischen Faktors bzw. ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den verschiedenen Verfahren liegt nur dann vor, wenn der zugehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die nicht größer ist als 5%. Von einer ausreichenden statistischen Sicherung kann allerdings erst gesprochen werden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten sogar kleiner als 1% ist. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage, eine Mittelwertsdifferenz $\sigma \bar{x}(t)$ sei statistisch gesichert von 0 verschieden, wurde daher nur angegeben, wenn diese nicht größer ist als 5%.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Versuchsreihe 1

Ein statistisch gesicherter Einfluß des Adrenalins auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Quaddeln läßt sich in dieser Versuchsreihe nur bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nachweisen. Für diesen Quaddel-Typus ist die Diffusionsgeschwindigkeit zum Zeitpunkt 15' gesichert kleiner als bei der zugehörigen Kontroll-Quaddel (Irrtumswahrscheinlichkeit maximal 0,1%); zum Zeitpunkt 45' ist die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel immer noch kleiner als die Kontroll-Quaddel 2, jedoch läßt sich hier der Unter-

schied statistisch nicht sichern.

Versuchsreihe 2

Es läßt sich hier sowohl bei der reinen Farbstoff-Quaddel als auch bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ein statistisch hoch gesicherter Einfluß des Noradrenalins auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln feststellen (Irrtumswahrscheinlichkeit in jedem Falle kleiner als 0,1%). Aus dem Vorzeichen der zugehörigen Mittelwertsdifferenzen $\bar{C}\bar{x}(V)$ ergibt sich, daß es sich hierbei um eine Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit jedes Quaddel-Typus nach Applikation von Noradrenalin handelt; zum Zeitpunkt 15' p.i. ist diese Verminderung für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel größer, zum Zeitpunkt 45' p.i. ist die Verringerung der Diffusionsgeschwindigkeit für die reine Farbstoff-Quaddel größer.

Versuchsreihe 3

Auch hier liegt wieder eine statistisch hoch gesicherte Hemmung in der Diffusionsgeschwindigkeit beider Quaddel-Typen vor (Irrtumswahrscheinlichkeit bei der reinen Farbstoff-Quaddel 1% für den Zeitpunkt 15' und 0,1% für den Zeitpunkt 45', bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel allgemein 0,1%). Die Größe der Mittelwertsdifferenzen $\bar{C}\bar{x}(t)$ für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel in dieser Versuchsreihe zeigt, daß hier eine noch stärkere Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität eintritt als in der Versuchsreihe 4.

Versuchsreihe 4

Auch in dieser Versuchsreihe läßt sich eine statistisch gesicherte Hemmung in der Ausbreitungsgeschwindigkeit beider Quaddel-Typen nach Applikation der Substanzen nachweisen (Irrtumswahrscheinlichkeit bei der reinen Farbstoff-Quaddel 1%, bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel 0,1%). Aus der Größe der Mittelwertsdifferenzen $\bar{C}\bar{x}(t)$ für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ergibt sich, daß die Hemmung der Diffusionsgeschwindigkeit dieses Quaddel-Typus in dieser Versuchsreihe größer ist als in der Versuchsreihe 2. Insbesondere fällt auf, daß im Gegensatz zu der Versuchsreihe 1 die Hemmung der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zum Zeitpunkt 45' größer ist als zum Zeitpunkt 15'.

Abschließend sei noch bemerkt, daß sich bei keiner der drei Ver-

suchsreihen ein statistisch gesicherter Einfluß der Lokalisation auf die Wirkung der Verfahren feststellen ließ. Der wesentliche Sinn des Versuchsplanes liegt jedoch in einer Verringerung der experimentellen Variabilität; in den vorliegenden Versuchsreihen ist diese sehr klein, wie sich aus ihrer Schätzung, der Rest-Varianz, ergibt.

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.185	395	2,48	-
Zwischen Verfahren	5	77.263	15.453	97,19	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	70.959	70.959	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Farbst.)	1	38	38	-	-
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst.)	1	25	25	-	-
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Hyase)	1	2.838	2.838	17,84	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	3.403	3.403	21,40	0,1%
Rest-Varianz	15	2.388	159		
Gesamt-Varianz	23	80.836	3.515		

T a b e l l e 8

(1 γ Adrenalin/100 g i.v.)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	136	27	1,93	-
Zwischen Lokalisationen	5	150	30	2,14	-
Zwischen Verfahren	5	99.674	19.935	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	97.136	97.136	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Farbst.)	1	702	702	50,14	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst.)	1	217	217	15,50	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Hyase)	1	1.394	1.394	99,57	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	225	225	16,07	0,1%
Rest-Varianz	20	282	14		
Gesamt-Varianz	35	100.242	2.864		

T a b e l l e 9

(1 γ Noradrenalin/100 g i.v.)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	59	12	-	
Zwischen Lokalisationen	5	50	10	-	
Zwischen Verfahren	5	75.950	15.190	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	50.251	50.251	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Farbst.)	1	600	600	22,22	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst.)	1	169	169	6,26	5%
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Hyase)	1	17.380	17.380	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	7.550	7.550	100,00	0,1%
Rest-Varianz	20	549	27		
Gesamt-Varianz	35	76.608	2.189		

T a b e l l e 10

(5 mg Avil/100 g + 1γ Adrenalin/100 g, 15' und 45')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	183	37	-	-
Zwischen Lokalisationen	5	142	28	-	
Zwischen Verfahren	5	87.510	17.502	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	78.213	78.213	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Arbst.)	1	633	633	10,91	1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst.)	1	4	4	-	
Zw. Kontr. u. V.-Zeit. (Hyase)	1	7.141	7.141	100,00	0,1%
Zw. Versuchszeiten (Hyase)	1	1.519	1.519	26,19	0,1%
Rest-Varianz	20	1.157	58		
Gesamt-Varianz	35	88.992	2.543		

T a b e l l e 11

5 mg Avil/100 g + 1γ Noradrenalin/100 g, 15' und 45')

	$\bar{x}$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F_v	128	76			
$F_{15'}$	122	144	- 6		-
$F_{45'}$	126	87	- 2		-
FH_v	256	174			
$FH_{15'}$	203	579	-53	40,8%	0,1%
$FH_{45'}$	244	132	-12	9,2%	-

T a b e l l e 12
(1 γ Adrenalin/100 g i.v.)

	$\bar{x}$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F_v	136	10,2			
$F_{15'}$	127	7,8	- 9		0,1%
$F_{45'}$	118	33,4	-18		0,1%
FH_v	243	16,2			
$FH_{15'}$	220	16,6	-23	19,8	0,1%
$FH_{45'}$	229	29,2	-14	12,3	0,1%

T a b e l l e 13
(1 γ Noradrenalin/100 g i.v.)

	$\bar{x}$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F_v	133	11,8			
$F_{15'}$	125	20,0	- 8		1,0%
$F_{45'}$	117	3,6	-16		0,1%
FH_v	244	13,2			
$FH_{15'}$	203	48,2	-41	34,4	0,1%
$FH_{45'}$	153	34,8	-91	76,7	0,1%

T a b e l l e 14

(5 mg Avil/100 g + 1γ Adrenalin/100 g)

	$\bar{x}$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F_v	123	7,0			
$F_{15'}$	111	20,6	-12		0,1%
$F_{45'}$	110	50,6	-13		0,1%
FH_v	237	28,6			
$FH_{15'}$	206	19,4	-31	25,6	0,1%
$FH_{45'}$	183	169,8	-54	44,1	0,1%

T a b e l l e 15

5 mg Avil/100 g + 1γ Noradrenalin/100 g).

D i s k u s s i o n

Die Versuchsergebnisse der vorgelegten Arbeit haben gezeigt, daß die spreadinghemmende Wirkung der experimentell zugeführten Nebennierenmark-Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin nicht durch das Antihistaminicum Avil aufgehoben sondern eher verstärkt wurde. Wenn nach Versuchen von A h l h e i m ¹⁵ die spreadinghemmende Wirkung des Natriumsalicylats, des Phenylbutazons, des Prednisolons, des Oestrinsulfates und der im Moor wirksamen Substanzen durch das Antihistaminicum Avil blockiert wurde und andererseits eine über eine Katecholaminfreisetzung des Nebennierenmarkes laufende Wirkung dieser spreadinghemmenden Substanzen angenommen wird, so kann nach unseren Versuchsergebnissen nicht klargestellt werden, daß Histamin als Folge der Katecholaminwirkung freigesetzt und spreadinghemmend wirksam wirkt. Jedoch zeigten Untersuchungen von K o n t i s ¹⁶, daß niedrige Histamindosen zu einer Hemmung des Hyaluronidase-spreadings führen, die durch Avil aufzuheben war. Wenn dennoch Histamin im Wirkungsablauf spreadinghemmender Stoffe eine Rolle spielt, kann demnach vorerst nur diskutiert werden, ob die spreadinghemmenden Substanzen (z.B. Natriumsalicylat, Phenylbutazon, Prednisolon usw.) erst nach einer Histaminfreisetzung Nebennierenmark-katecholamine zur Ausschüttung bringen. Daß der spreadinghemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen über eine Katecholaminausschüttung zustandekommt, kann als gesichert gelten ^{1,2}. Falls erst eine Histaminwirkung die Katecholaminfreisetzung im Wirkungsablauf spreadinghemmender Substanzen bewirkt, müßte der spreadinghemmende Effekt des Histamins durch Adrenalektomie, Ganglienblocker und adrenolytisch wirksame Substanzen aufzuheben sein. Tatsächlich haben K o n t i s ¹⁶ bzw. S e i d l ¹⁷ zeigen können, daß der spreadinghemmende Effekt des Histamins durch das Adrenolyticum Ergotamintartrat bzw. durch den Ganglienblocker Pendiomid weitgehend reduziert wird. Der Einfluß der Adrenalektomie ist noch nicht untersucht worden. Entsprechende Untersuchungen dieser Art wären demnach anzuregen, um weitere Einblicke in eine etwaige Bedeutung des Histamins im Wirkungsablauf hyaluronidase-spreidinghemmender Substanzen zu erhalten.

Die Schlußfolgerung unserer Versuchsergebnisse würde bedeuten,

daß Histamin in der Lage ist, Adrenalin und/oder Noradrenalin aus den Nebennieren freizusetzen. Diese Meinung wird auf Grund der Ergebnisse verschiedener Versuchsanordnungen von Dunlop¹⁸, Burn und Deald¹⁹, Guggenheim²⁰ und anderen im Falle der Freisetzung des Adrenalins vertreten, wogegen entsprechende Versuche im Bezug auf das Noradrenalin nicht vorzuliegen scheinen. Bekannt ist die umgekehrte Beeinflussung der genannten Substanzen, wonach Adrenalin Histamin freisetzt (Elmadjian, Hupe und Lamson²¹; Staub^{22,23}; Burn und Deald¹⁹; Bircher u. Schalch²⁴; Haas²⁵; Huttner²⁶; Rocha e Silva²⁷), wenn auch negative Ergebnisse in dieser Richtung vorliegen. Noradrenalin soll nach Guggenheim²⁰ im Gegensatz zum Adrenalin keinen Einfluß auf die Histaminfreisetzung haben, wogegen Haas²⁵ die Ansicht vertritt, daß auch Noradrenalin Histamin freisetzt. In unserer Versuchsanordnung findet sich ein Anhalt dafür, daß im Wirkungsablauf hyaluronidase-spreadinghemmender Substanzen Adrenalin oder Noradrenalin zu einer Histaminfreisetzung führen. Wenn überhaupt dem Histamin eine Rolle beim Zustandekommen der Hemmung des Hyaluronidasespreadings zugeschrieben werden darf, so ist anzunehmen, daß Histamin eine Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark bewirkt. Da es sich im Falle einer Beteiligung des Histamins am Wirkungsablauf hyaluronidase-spreadinghemmender Substanzen nur um geringe wirksame Histamindosen handeln wird und Burn und Deald¹⁹ die Ansicht einer funktionellen Wechselwirkung zwischen Adrenalin und Histamin vertreten, durften die Versuchsergebnisse dieser Autoren, daß kleine Dosen beider Substanzen einen beschleunigten Ausstoß ihrer Antagonisten zur Folge haben, auch in unseren Resultaten zum Ausdruck kommen, indem eine geringe Histamindosis Adrenalin aus dem Nebennierenmark freisetzt.

Zusammenfassung

Mit einer bereits mehrfach beschriebenen Methode wurde der Einfluß des Antihistaminicums Avil auf die hemmende Wirkung des Farbstoff-Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings durch Adrenalin und Noradrenalin untersucht. Es zeigte sich, daß durch Avil die spreadinghemmende Wirkung der Nebennierenmark-Katecholamine nicht aufgehoben wird. Es wurde eher eine Verstärkung des Effektes registriert. Anhand bereits vorliegender Ergebnisse wurde diskutiert, ob Histamin eine Rolle bei der Wirkung spreadinghemmender Substanzen spielt und welche Stellung ihm möglicherweise im Wirkungsablauf zukommt.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 2) Mathies, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
- 3) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 4) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 5) Sayers, S. u. Sayers, M.: Endocrinology 40, 256 (1957)
- 6) Sayers, S. u. Sayers, M.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 50, 522 (1949)
- 7) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D.: Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 8) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. 123, 334 (1960)
- 9) Schmidt, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 10) Mathies, H., Oestreich, G. u. Schwalbach, K.: in Vorbereitung
- 11) Eichholtz, F.: Lehrb. Pharm. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg. 1957, 80
- 12) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65, 447 (1959)
- 13) Ahlheim, G.: Diss. München in Vorbereitung
- 14) Werle, E. u. Amann, R.: Naturwissensch. 42, 583 (1955)
- 15) Sanyal, R.K. u. West, G.B.: Nature (London) 1293 (1956)
- 16) Kontis, N.: Diss. München 1960
- 17) Seidl, J.: Diss. München in Vorbereitung
- 18) Dunlop, J.: Physiolog. 81, 2 (1934)
- 19) Burn, J.H. u. Deald, H.H.: J. Physiolog. 61, 185 (1926)
- 20) Guggenheim, M.: Die biogenen Amine und ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie des pflanzlichen und tierischen Stoffwechsels. 4. Aufl. 1951, S. Karger, Basel-New York
- 21) Elmadjan, F., Hope, M.M. u. Lamson, E.T.: J. Clin. Endocr. 17, 608 (1957)
- 22) Staub, H.: Experientia II/I, 29 (1946)
- 23) Staub, H.: Schweiz. Med. Wschr. 76, 818 (1946)
- 24) Bircher, R. u. Schalch, W.R.: Helv. Physiol. Acta 6, 813 (1948)
- 25) Haas, H.: Histamin und Antihistamine. Editio Cantor, Aulendorf (1951)
- 26) Hutterer, Ch.P.: Experientia V, 53 (1949)
- 27) Rocha e Silva, M.: Triangel-Sandoz-Zschr. med. Wissensch. 3, 1 (1957)

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, sowie Herrn Dr. H. Mathies für die Anregung zu dieser Arbeit und Unterstützung bei der Durchführung der Versuche. Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich bin ich für die statistischen Berechnungen der Versuchsergebnisse dankbar.

Am 10.4.1926 wurde ich in Oroszvár/Karlbud (Ungarn) geboren. In meinem Heimatort besuchte ich die Volksschule. Die Mittelschule habe ich in Hegyeshalom/Strass-Sommerein und Győr/Raab absolviert. In der Handelsmittelschule zu Győr erreichte ich im Jahre 1945 die Reifeprüfung. Im Jahre 1953 machte ich die Reifeprüfung am Kanizsai-Dorottya Realgymnasium zu Budapest. Im September 1955 bestand ich die ärztliche Vorprüfung in Budapest. Sechs Semester studierte ich in Budapest, drei Semester in Wien. Drei Semester war ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München immatrikuliert und beendete am 12.12.60 das Staatsexamen. Auch mein Promotionsthema bearbeitete ich hier in München.

